

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-149238

(43)Date of publication of application : 21.05.2003

(51)Int.Cl. G01N 33/53
C12M 1/00
G01N 21/78
G01N 33/483
G01N 37/00

(21)Application number : 2001-343020 (71)Applicant : YOKOGAWA ELECTRIC CORP

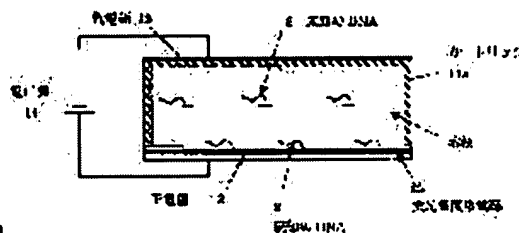
(22)Date of filing : 08.11.2001 (72)Inventor : OTSUBO MINORU
TANAAMI TAKEO

(54) BIOCHIP AND GENE SEQUENCE MEASURING APPARATUS USING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To realize a gene analytical chip by which the high speed and the high sensitivity of hybridization are achieved by an electric-field hybridization system in which a metal layer on a fluorescence-intensity enhancement chip is used as an electrode.

SOLUTION: In the biochip in which a plurality of biopolymers are arranged, a transparent layer having a function to enhance a fluorescence intensity is formed on the metal layer used as the electrode on one side for executing the hybridization.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 20.08.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than

THIS PAGE BLANK (USPTO)

the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-149238

(P 2 0 0 3 - 1 4 9 2 3 8 A)

(43) 公開日 平成15年5月21日 (2003. 5. 21)

(51) Int. Cl.

識別記号

G01N 33/53

C12M 1/00

G01N 21/78

33/483

37/00

102

F I

G01N 33/53

C12M 1/00

G01N 21/78

33/483

37/00

テ-マコード (参考)

M 2G045

A 2G054

C 4B029

C

102

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全5頁)

(21) 出願番号 特願2001-343020 (P 2001-343020)

(22) 出願日 平成13年11月8日 (2001. 11. 8)

(71) 出願人 000006507

横河電機株式会社

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号

(72) 発明者 大坪 実

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河

電機株式会社内

(72) 発明者 田名網 健雄

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河

電機株式会社内

Fターム(参考) 2G045 AA35 DA13 FB02 FB12 GC15

2G054 AA06 CA22 EA03 GA04

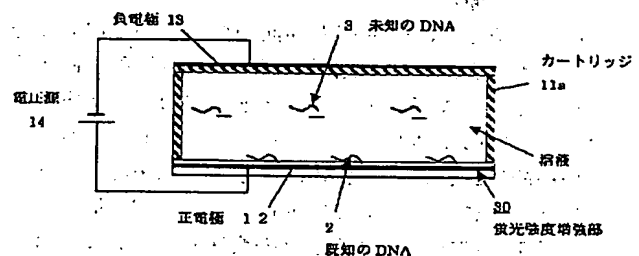
4B029 AA07 FA12

(54) 【発明の名称】 バイオチップおよびそれを用いた遺伝子配列測定装置

(57) 【要約】

【課題】 蛍光強度増強チップの金属層を電極に用いた電界ハイブリダイゼーション方式によりハイブリダイゼーションの高速化と高感度化を図った遺伝子解析チップを実現する。

【解決手段】 複数の生体高分子を配置したバイオチップにおいて、ハイブリダイゼーションを行うための一方の電極として兼用される金属層の上に蛍光強度増強の機能を有する透明層を持つ。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】複数の生体高分子を配置したバイオチップにおいて、

ハイブリダイゼーションを行うための一方の電極として兼用される金属層の上に蛍光強度増強の機能を有する透明層を持つことを特徴とするバイオチップ。

【請求項 2】前記透明層は、その厚さが前記蛍光の波長の $1/4 + i/2$ ($i = 0, 1, 2, \dots$) であることを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【請求項 3】前記金属層は Ag または Al で形成され、前記透明層はガラスまたはゲルまたは樹脂で形成されたことを特徴とする請求項 1 または 2 記載のバイオチップ。

【請求項 4】前記ハイブリダイゼーションが電界促進型または電流促進型で行われるように構成されたことを特徴とする請求項 1 ないし 3 記載のバイオチップ。

【請求項 5】前記電界促進型における電極への印加電圧は直流または交流またはパルスであることを特徴とする請求項 4 記載のバイオチップ。

【請求項 6】複数の生体高分子を配置し、ハイブリダイゼーションを行って生体高分子の遺伝子配列を測定するように構成された遺伝子配列測定装置において、生体高分子を含んだ溶液が充填されたカートリッジと、このカートリッジの内に取り付けられ、ハイブリダイゼーションを行うための電極として兼用される金属層とその上に積層された蛍光強度増強の機能を有する透明層から形成され、この透明層に既知の生体高分子が固定化されるバイオチップと、

前記カートリッジに取付けられたハイブリダイゼーション用の負の電極と、前記バイオチップの金属層と前記負の電極の間に電圧を印加する手段を備え、前記透明層または金属層に固定化された既知の生体高分子に前記溶液中に浮遊した蛍光標識付きの未知の生体高分子をハイブリダイゼーションにより相補的に結合させて生体高分子の遺伝子配列を測定することができるようにした遺伝子配列測定装置。

【請求項 7】前記バイオチップの金属層が Ag または Al で形成され、透明層がガラスまたはゲルあるいは樹脂で形成されたことを特徴とする請求項 6 記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項 8】前記バイオチップは、透明層の厚さが蛍光の波長の $1/4 + i/2$ ($i = 0, 1, 2, \dots$) であることを特徴とする請求項 6 記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項 9】前記負の電極は、ハイブリダイゼーション後にカートリッジから取り外せるかまたは透明電極で形成されたことを特徴とする請求項 6 ないし 8 記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項 10】前記電圧を印加する手段は、直流または交流あるいはパルス電圧を印加することができるように

構成されたことを特徴とする請求項 6 ないし 9 記載の遺伝子配列測定装置。

【請求項 11】前記負の電極はカートリッジの内面に取り付けられ、前記ハイブリダイゼーションが電流促進型で行われるように構成されたことを特徴とする請求項 6 記載の遺伝子配列測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、DNA や蛋白等の生体高分子の遺伝子の配列を調べるためのバイオチップおよびそれを用いた遺伝子配列測定装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】既知の DNA を固定した基板上に未知の DNA を流してハイブリダイゼーションすることにより、対応する DNA 配列に未知の DNA を結合させることができる。この場合、未知の DNA 側に蛍光試薬を結合しておくことにより、既知の DNA と結合した未知の DNA 配列を知ることができる。

【0003】図 4 (a) に示すように、既知の DNA 2 が固定された電極 1 に正の電圧を印加すると、DNA が負に帯電しているため、未知の DNA 3 は同図 (b) に示すように電極 1 側に引き寄せられる。これにより数時間かかっていたハイブリダイゼーションは数十秒で完了することになる。

【0004】この原理を応用してハイブリダイゼーションを高速化するものとして、例えば、特願平 2 0 0 0 - 2 7 1 3 5 7 号に記載の遺伝子配列を計測するための測定装置がある。この測定装置は図 5 のように構成されている。絶縁体で形成されたカートリッジ 11 の内部には、既知の DNA 2 と未知の DNA 3 が混入した液体が密封状に充填されている。

【0005】既知の DNA 2 は同図 (a) のようにカートリッジ 11 の壁面に固定化されている。カートリッジ 11 を挟んで配置された正電極 12 と負電極 13 に電圧源 14 から電圧が印加されると、浮遊している未知の DNA 3 は負に帯電しているため同図 (b) に示すように正電極 12 側に引き寄せられて既知の DNA 2 に接近する。このようにしてハイブリダイゼーションの高速化が可能となる。

【0006】また、未知の DNA を蛍光物質で標識しておき、これに励起光を照射して蛍光を発生させる場合、検出される蛍光強度が強ければ強いほどその系における検出感度は高くなる。すなわち、より微量の蛋白質や核酸を定量することが可能となる。このため、等量の蛍光物質からの蛍光を増強することは極めて有意義なことである。

【0007】米国特許 4, 6 4 9, 2 8 0 には、図 6 に示すようにガラス基板 21 の上に金属 22、誘電体 23、蛍光物質 24 を重ねた構造として、蛍光物質 24 が

10

20

30

40

50

ら発生する蛍光の強度を増幅できるようにした蛍光強度増強チップが記載されている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、従来のこれらチップには次のような課題があった。高速ハイブリダイゼーション用のチップの場合、

(a) カートリッジにはある程度の厚みが必要であるため、電極間距離が長くなり、電界強度が低下する。

(b) カートリッジや電極などの部品が必要となる構成であるため部品点数が多くなる。

(c) ハイブリダイゼーションの速度は速くなるが感度が向上するわけではない。

【0009】他方、蛍光強度増強チップの場合は、感度は向上するがハイブリダイゼーション速度が速くなるわけではない。

【0010】本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、特有の蛍光強度増強部および蛍光強度増強部の金属層を電極に兼用してハイブリダイゼーションを行うことによりハイブリダイゼーションの高速化と高感度化を図ることのできるバイオチップおよび遺伝子配列測定装置を実現することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】このような目的を達成するために、請求項1の発明では、複数の生体高分子を配置したバイオチップにおいて、ハイブリダイゼーションを行うための一方の電極として兼用される金属層の上に蛍光強度増強の機能を有する透明層を持つことを特徴とする。このようなバイオチップによれば、ハイブリダイゼーションの高速化と高感度化を実現できる。また、金属層がハイブリダイゼーション用の一方の電極を兼ねるため従来のバイオチップに比べて部品点数が減り、また薄い透明層により絶縁されるため電極間距離を短くすることができるという効果がある。

【0012】また、請求項6の発明では、複数の生体高分子を配置し、ハイブリダイゼーションを行って生体高分子の遺伝子配列を測定するように構成された遺伝子配列測定装置において、生体高分子を含んだ溶液が充填されたカートリッジと、このカートリッジの内に取り付けられ、ハイブリダイゼーションを行うための電極として兼用される金属層とその上に積層された蛍光強度増強の機能を有する透明層から形成され、この透明層に既知の生体高分子が固定化されるバイオチップと、前記カートリッジに取付けられたハイブリダイゼーション用の負の電極と、前記バイオチップの金属層と前記負の電極の間に電圧を印加する手段を備え、前記透明層に固定化された既知の生体高分子に前記溶液中に浮遊した蛍光標識付きの未知の生体高分子をハイブリダイゼーションにより相補的に結合させて生体高分子の遺伝子配列を測定することができるようにしたことを特徴とする。このような構成によれば、特有の構造の蛍光強度増強部を使用した

ことおよびその金属層を電極としても兼用したことにより、従来の遺伝子配列測定装置に比べてハイブリダイゼーションの高速化と高感度化が同時に実現できると共に部品点数の少ない遺伝子配列測定装置を容易に得ることができる。

【0013】

【発明の実施の形態】以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。図1は本発明に係るバイオチップを用いた測定装置の一実施例を示す要部構成図である。図1において、図5と同等部分には同一符号を付してある。図5と異なるところは、透明材料で形成されたカートリッジ11aの底面が蛍光強度増強部30で形成され、カートリッジ11aの上面には着脱可能に構成された負電極13が取り付けられた構造になっている点である。

【0014】図2は蛍光強度増強部30の部分拡大図である。この蛍光強度増強部30は、ガラス基板31の上に金属層32と透明層33が積層された構造であり、カートリッジ11aの底面に、透明層33が内側になるようにして密封状に取り付けられている。この場合、金属層32は蛍光強度増強用の反射ミラーの作用効果を持つが、ハイブリダイゼーションの正電極としても兼用される。また、透明層33はハイブリダイゼーションにおける絶縁体としても兼用される。

【0015】この場合、透明層33は、所定の厚さ、例えば蛍光の波長の $1/4$ あるいはこれに $1/2$ 波長の整数倍を加えた厚さ[すなわち、蛍光の波長の $1/4 + i/2$ (ただし $i=0, 1, 2, \dots$)の厚さ]であれば、蛍光強度を増強する作用があり、ガラス、ゲルあるいは樹脂などの材質で形成されたものである。金属層32はAgあるいはAlなどで形成されている。

【0016】このような構成における動作を次に説明する。既知のDNA2は蛍光強度増強部30の透明層33の表面に固定化されている。溶液と絶縁された蛍光強度増強用の金属層32は正電極として利用する。この正電極と負電極13は対向しており、この電極に挟まれた領域に、荷電したDNAなどの生体高分子溶液が存在する形である。

【0017】電圧源14より上記電極に電圧を印加し、電界をかける。DNAは負に荷電しているため正電極側に引き寄せられ、未知のDNA3が相補的な関係にある既知のDNAとハイブリダイゼーションする。ハイブリダイゼーション後は電極への電圧印加を取りやめ、負電極13をカートリッジ11aから取り外す。

【0018】既知のDNAに結合した未知のDNA3には蛍光標識がしてあるので、カートリッジ11aの蛍光強度増強部30を蛍光測定するとその未知のDNAの配列を測定することができる。

【0019】本発明は、上記実施例に限定されなく、その本質から逸脱しない範囲で更にも多くの変更、変形をも含むものである。例えば、負電極13を透明電極

とすれば、ハイブリダイゼーション後のDNA配列測定時には電極を取り外さなくても測定することができる。また、金属膜32としては、AgまたはAuが使用できる。

【0020】また、上記実施例は溶液に電界を印加してハイブリダイゼーションを高速化するいわゆる電界促進型であるが、図3に示すような電流促進型とすることもできる。図3において、13aは負電極、30aは金属層32と透明層33から構成される蛍光強度増強部である。負電極13aと蛍光強度増強部30aの金属層32（正電極を兼ねている）は、絶縁体のカートリッジ11の内壁面に取付けられている。なお、負電極13aは金属層32と離れた位置にあればカートリッジ内面の何処に取り付けても構わない。

【0021】このような構成においても、図1の場合と同様に蛍光強度増強部30の透明層33の表面に既知のDNA2が固定化されていて、電圧源14から電圧を印加すると（溶液中に電流は流れるが）、負に帯電した未知のDNA3は正電極（金属層32）側に引き寄せられ、相補的な関係にある既知のDNA2とハイブリダイゼーションする。

【0022】また、図1および図3に示す透明層33としては、ガラスに限らず、ゲルや樹脂を使用することもできる。また、電圧源14からの印加電圧は、直流に限らず、交流やパルスであっても構わない。また、既知のDNAは透明層33の表面ではなく、下地の金属層32に固定してもよい。これは透明層がゲルなどの場合に特に有効である。

【0023】

【発明の効果】以上説明したように本発明によれば次のような効果がある。

(1) 蛍光強度増強部の使用および蛍光強度増強部の金

属層を電極に兼用することにより、電界促進型あるいは電流促進型のハイブリダイゼーションの高速化と高感度化が同時に実現できる。

(2) 蛍光強度増強部の金属層を電極に兼用したため、従来のように別途正電極を設ける必要はなく、部品点数は少なくなる。

(3) 薄い透明層で絶縁されるため電極間距離を容易に短くすることができ、カートリッジの小型化、ハイブリダイゼーションの高速化が容易に実現できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係るバイオチップを用いた測定装置の一実施例を示す要部構成図である。

【図2】蛍光強度増強部の部分拡大図である。

【図3】本発明に係るバイオチップを用いた測定装置の他の実施例を示す要部構成図である。

【図4】DNAを電極に引き寄せる場合の説明図である。

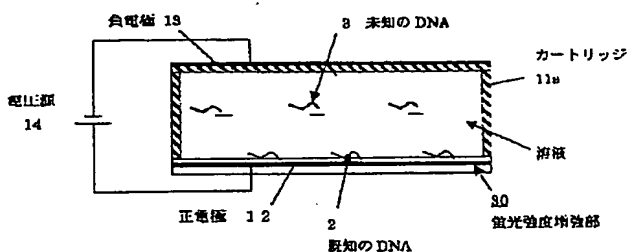
【図5】従来の測定装置の一例を示す構成図である。

【図6】従来の蛍光強度増強チップの一例を示す構成図である。

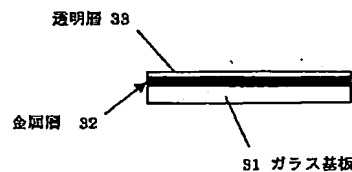
【符号の説明】

- 2 既知のDNA
- 3 未知のDNA
- 11, 11a カートリッジ
- 12 正電極
- 13 負電極
- 14 電圧源
- 30, 30a 蛍光強度増強部
- 31 ガラス基板
- 32 金属層
- 33 透明層

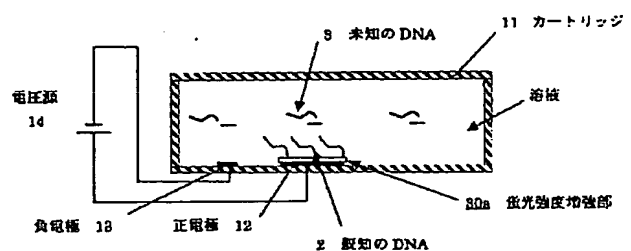
【図1】



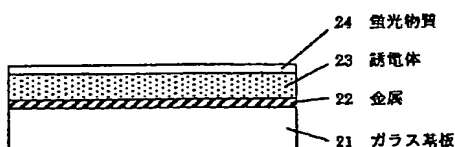
【図2】



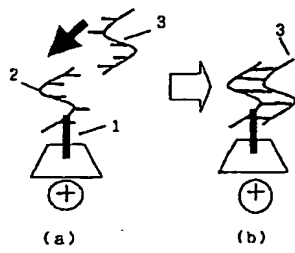
【図3】



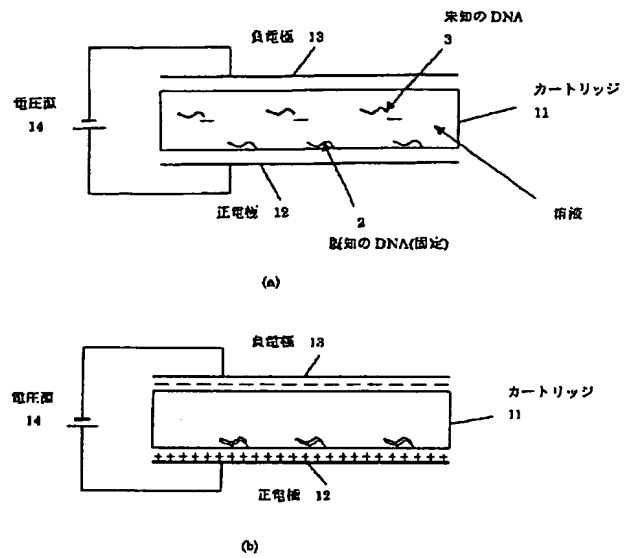
【図6】



【図4】



【図5】



THIS PAGE BLANK (USPTO)